

**citrate, hCG および prostaglandin F<sub>2α</sub> の作用**

(関西医大)

余語 郁夫, 芦原 孝三, 木下 道雄  
堀越 順彦, 樺木 勇

目的: ヒト妊娠黄体の steroidogenesis に及ぼす clomiphene, hCG, prostaglandin (PG) F<sub>2α</sub> の効果を検討し, 妊娠黄体機能調節機序の一端を明らかにしようとした。

方法: 臨床的適応のもとに妊娠7-13週までの妊婦8名から摘出した妊娠黄体についてスライスを作り, Hanks液を medium として37°Cのもとで各種条件下で2時間インキュベーションをおこなった。medium 中には clomiphene, hCG, PGF<sub>2α</sub> を各単独に, あるいは clomiphene に hCG, PGF<sub>2α</sub> それぞれを加え medium のものを対照とした。medium 中の progesterone, estradiol-17β は RIA によつて測定した。

成績: clomiphene により medium 中の progesterone, 17-OH-progesterone は対照に比し低下したが, estradiol では変化が認められなかつた。hCG, PGF<sub>2α</sub> それぞれ単独では medium 中のこれらのステロイドは増加した。ところが clomiphene とともに hCG, PGF<sub>2α</sub> をそれぞれ添加すると, clomiphene による黄体からの progesterone 分泌低下を hCG は抑えることができたが, PGF<sub>2α</sub> ではそのような拮抗作用は認められず, 妊娠黄体に対する hCG, PGF<sub>2α</sub> の作用機序の相異を示唆した。

独創点: 従来, ヒト妊娠黄体に対する clomiphene の作用を検討した報告はなく, また clomiphene を利用して PGF<sub>2α</sub> および hCG の作用機序の相異を検討した。

質問 (徳島大) 森下 一

Clomiphene (1mg) で Progesterone, 17α-OH Progesterone は低下していますが estradiol はやや増加傾向がみられています。この差異をどの様にお考えでしょうか。

答弁 (関西医大) 芦原 孝之

私たち, 8名の今回の成績において, たしかに Progesterone と estradiol-17β とでは, Clomid 1mg/ml のみ, 相異が認められました。これは nonspecific な反応とは考えにくく, 増加した E<sub>2</sub> が逆に P 生成分泌に影響を及ぼす可能性も考えられます。今後の検討に待ちたいと思います。

質問 (九州大) 楠田 雅彦

ラットでは FSH 増加 E<sub>2</sub> 上昇が認められたとうかが

いました。incubation では clomiphene の黄体細胞への直接作用と理解されますが, hCG がこれに拮抗するメカニズムについて御教示下さい。

答弁 (関西医大) 芦原 孝之

ラットにおける in vivo においては estrogen の中枢系での競合が, clomid による FSH↑ をもたらし E<sub>2</sub> ↑ が起るが, Clomid の direct action は, やはり Clomid と hCG は同 step での作用と考えられ, PGF<sub>2α</sub> と clomid の作用は作用段階がことなるのではないかと考えております。Ovarium の Steroidogenesis において, Clomid と hCG とは Receptor レベルでの拮抗ではないかと考えておりますが, PGF<sub>2α</sub> は hCG 作用部位よりは, 多少後の Step での作用ではないかと考えます。

質問 (九大温研) 立山 浩道

7W~9Wの正常妊娠および切迫流産例に hCG 5,000~2,000Iu/day 投与で Prog, E<sub>2</sub> の上昇は認められないが, この相異について御意見をお聞きしたい。

初期妊娠例に PGF<sub>2α</sub> の投与時の Prog., E<sub>2</sub> の動態を検討されていたら御教示下さい。(in vivo で)

答弁 (関西医大) 余語 郁夫

1. PGF<sub>2α</sub>, hCG が共にヒト妊娠黄体に対して Steroidogenesis を亢進し, clomid がこれを抑制するが, この場合 clomid は steroidogenesis の比較的初期の step に作用することが推測されるが, あるいはレセプターに関係する機序があるかもしれない。

2. In vivo と in vitro の相異は, たとえば preincubation などによつて生体内で受けた hCG の影響がある程度除かれるといったことなども考えられる。

3. 妊娠初期に PGF<sub>2α</sub> を投与して, ホルモンの推移をみた成績は持ち合わせていない。

質問 (神戸大) 北浦 豊

incubation medium 中に pregnenolone を添加されていますが, その目的, 及びその濃度を決められた根拠を, お教え下さい。

答弁 (関西医大) 芦原 孝之

Progesterone 及び Estradiol-17β の前駆物質として存在する Pregnenolone を medium 中追加いたしました。1976年より Harmmanstein 等の in vitro の Incubation 実験を参考にし, 本実験を行いました。

152. ヒト妊娠黄体及び胎盤における Progesterone 産生の調節機構

(日本大)

増田 隆昭, 土橋 一慶, 田 根培

吉田 孝雄, 高木 繁夫

目的: 妊娠時大量の progesterone ( $\Delta^4\text{P}$ ) が産生されるが, それの黄体並びに胎盤での産生調節機構についてはなお明らかでない. そこで今回は  $\Delta^4\text{P}$  の生成酵素である sulfatase 並びに  $3\beta\text{-ol-dehydrogenase}$  ( $3\beta\text{-HSD}$ ) 活性を中心に, 妊娠各時期での  $\Delta^4\text{P}$  産生調節機構について検討した.

方法: 材料にはヒト妊娠初期黄体と同期より末期における胎盤の microsome 分画を用い, 基質に pregnenolone- $^{14}\text{C}$  ( $\Delta^5\text{P-}^{14}\text{C}$ ) 及びその sulfate- $^3\text{H}$  ( $\Delta^5\text{P}\cdot\text{S-}^3\text{H}$ ) を用い, cofactor として NAD, NADPH 及び NADP を用いた. また諸種内因性 steroid を inhibitor として添加し, incubation は  $37^\circ\text{C}$  で5ないし15分間行つた. Km は Lineweaver-Burk's plot により, Ki は Dixon's plot により算定し, 組織蛋白量は Lorry 法により測定した.

成績: 末期胎盤での  $3\beta\text{-HSD}$  活性に対し最も阻害効果の高いものは  $17\alpha\text{-OH-}\Delta^4\text{P}$  で, 以下  $\text{DHA}\cdot\text{S}$ ,  $\Delta^4\text{P}$ ,  $20\alpha\text{-OH-}\Delta^4\text{P}$  の順となつた. 阻害型式は大部分の steroid が competitive pattern を示したが,  $\text{DHA}\cdot\text{S}$  及び  $\Delta^4\text{-A}$ . は non competitive pattern を示した. なお基質  $\Delta^5\text{P}$  の Km は  $5.0 \times 10^{-6}\text{M}$  であつた. また妊娠進行に伴う Km ( $\Delta^5\text{P}$ ) の変化に一定の傾向はなかつたが, 転換率は初期胎盤で70%, 中期で60%, 末期で50%となり, 阻害率も同様に初期胎盤で高値を示した. また中期以降の胎盤重量の増加に比し, 蛋白量の増加は明らかでなく転換率自体も低下するため, 胎盤の転換能 (n.mole  $\Delta^4\text{P}$  Product/mg Protein/min) は妊娠経過に伴い低下した. 一方, sulfatase 活性に対する内因性 steroid の阻害はほとんど認められず, 基質  $\Delta^5\text{P}\cdot\text{S}$  の Km も  $2.1 \times 10^{-3}\text{M}$  と著しく大きかつた. 従つて胎盤における  $\Delta^4\text{P}$  産生は, 基質親和性の低い sulfatase 系と, 内因性 steroid の阻害を受ける  $3\beta\text{-HSD}$  系との double rate limiting step によりその調節を受けているものと考えられる. 他方, 妊娠初期黄体との比較では, 黄体の転換能は20~90で同期胎盤のその約4ないし8倍と圧倒的に高く, 一方内因性 steroid による阻害率は胎盤でのそれよりも低かつた.

質問 (岡山大) 吉田 信隆

絨毛は急速に生長して来るが, 黄体はそれ程まで大きくならないと思われる. しかるに, 黄体が progesterone 産生優位と考えられているが, 実際の分泌量としての絨毛の機能は?

答弁 (日本大) 増田 隆昭

今回の実験では, 両者の転換率, 転換能を比較したの

みであつて, 実際の産生量を比較するに至っていない. 確かに, ability の観点からは黄体が高いのであるが, 黄体優位とするには, 局所でのこれら3者の動態の具体的な裏付けが必要であると考え.

### 153. Corticosteroid-binding globulin (CBG) の新しい簡易測定法とCBG 上昇反応に対するestrogen threshold について

(山形大) 川越慎之助, 広井 正彦

Cortisol との間に強い affinity をもつ血清蛋白に corticosteroid binding globulin (CBG) がある. CBG の測定には, 従来 gel-filtration や dialysis の方法が用いられたが, 操作が容易でない. 我々は charcoal adsorption technique を応用した簡易測定法を開発し, これを測定した. また, CBG は estrogen に反応して上昇するが, CBG と estrogen を同時に測定して estrogen threshold を明確にした.

CBG の測定法は, まず charcoal により検体中の steroids を除去して, steroid free の血清とし, これに既知量の radiolabeled cortisol を加えて CBG の binding sites を飽和し, 遊離の cortisol は再度 charcoal を用いて除去した. さらに non-CBG bound cortisol は  $60^\circ\text{C}$ , 30分加熱して CBG を不活化した検体で測定し, 両者の差から CBG の binding capacity (CBG-BC) を算出した. 本法では1日40検体を1人で測定出来, between-assay coefficient of variation (C.V.) は7.5%以下, within-assay C.V. は5.9%以下である.

成人では CBG-BC に男女差, 年齢差は認められなかつた. 月経周期中も, 5例の婦人で  $\text{E}_2$  はピーク時に  $190\sim 430\text{pg/ml}$  serum と上昇するにも拘らず, CBG-BC に変化はなかつた. 妊娠中は9~10週頃から CBG-BC は上昇し, この時期の  $\text{E}_2$  は  $1\text{ng/ml}$  以上となつた. また, Pergonal 投与婦人で,  $\text{E}_2$  が  $1\text{ng/ml}$  以下の例では CBG-BC に上昇はみられず,  $1\text{ng/ml}$  以上まで増加した例においてのみ CBG-BC は上昇した. このことから, CBG 上昇には endogenous estradiol の level が約  $1\text{ng/ml}$  必要と思われる.

CBG は estrogen 剤投与の際にも上昇し, Ovrал の連続投与づは, 投与開始後13日目まで上昇を続け, それ以後はほぼ constant な値を持続した. また, 種々量の Premarin を投与することで, CBG の上昇反応と投与量との間には dose-response の関係があり, この CBG の上昇反応はヒトにおける各種 estrogen 剤の estrogenicity を判定するのに応用し得る.